

1. はじめに

覚せい剤は一部の臨床応用を除いて「覚せい剤取締法」によりその使用や所持は厳しく規制されている。覚せい剤取締法での覚せい剤とは、1) フェニルアミノプロパン (アンフェタミン, Amphetamine)、フェニルメチルアミノプロパン (メタンフェタミン, Methamphetamine) 及び各その塩類、2) 上記に掲げる物と同種の覚せい作用を有する物であって政令で指定するもの、3) これらのいずれかを含有する物とされている。また覚せい剤原料として、エフェドリン類が指定され、その取り扱いも法律で規制されている。

メタンフェタミンは、1893年に長井長義によってエフェドリンから合成された化合物であり、アンフェタミンは、1887年に Edelemo によって合成された化合物であり、いずれも中枢神経刺激作用があり、疲労感を和らげる。昭和 16 年より、アンフェタミンは「ゼドリン」などの商品名で、メタンフェタミンは「ヒロポン」などの商品名で市販されるようになった。第二次世界大戦後、軍用目的で備蓄されていた覚せい剤が放出され、覚せい剤が乱用されるようになり保健衛生上の危害を生じるようになったので、昭和 23 年に薬事法によって劇薬に指定されるとともに販売規制が行われ、また昭和 26 年には覚せい剤取締法によって用途や取り扱いが厳しく制限され、違反行為による罰則も設けられた。しかし、不法な製造や密輸は後を絶たない。現在、覚せい剤取り扱い免許などを取得しておけば、大日本製薬(株)より“塩酸メタンフェタミン(ヒロポン)”は購入可能である。市販されているメタンフェタミンは *d*-体であるが、*l*-体や *dl*-体も覚せい剤として指定されている。

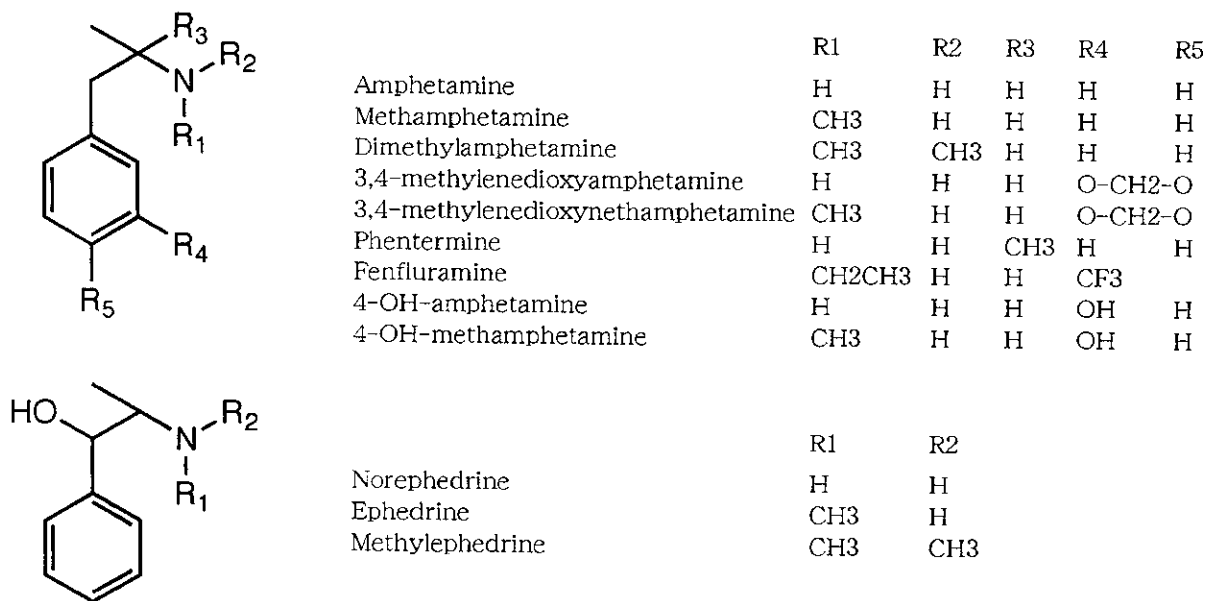


図1 覚せい剤および関連化合物の構造式

2. 覚せい剤の分析を始める前に

覚せい剤をはじめとする法的に規制された薬物を検査する際には、その検査結果が人権に関わることから慎重に分析しなければならず、採取した試料の取扱から分析に使用する器具、機器類の汚染など細心の注意を要する。また、簡易スクリーニング法で覚せい剤類が検出された場合、GC/MS 等の分析機器で覚せい剤類の存在を確認することが必要である。

採取された試料は2～5 ml ずつ2～3分割して、定量分析や再分析に備えて凍結保存しておくべきである。また、保存容器への吸着などの影響を抑えるためにも、気密性のガラス容器などを使用することが望ましい。

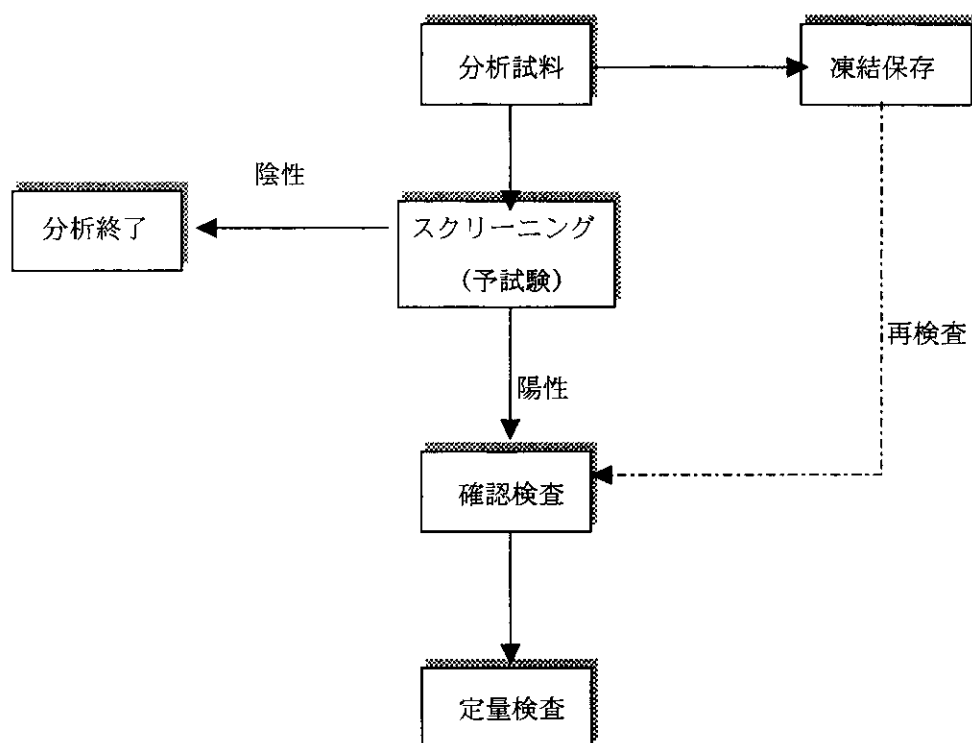


図2 薬毒物分析の流れ

3. スクリーニング法

薬毒物（広くは化学物質一般）の検査は、手間と時間を要するために全ての薬毒物の分析を実施することは不可能である。また、標的化合物にあった方法を選択しないと薬毒物を発見できないことさえあり得る。そこで最短の時間と手間で、確実に薬毒物検査を実施するために、検査を始める前には、どのような化合物が含まれているかを調査する必要がある。いわゆるスクリーニングである。

スクリーニングの方法は、使用できる検査試料の形態や量、検査試料中の薬毒物の量によって左右される。また、検査機関で所持している施設や器具などにも大きく左右されるため、各自の機関で使用可能なスクリーニング法を選択、準備しておくべきである。

3-1. 呈色反応 (Colorimetric assay)

呈色反応は、アミノ基やカルボキシル基などの特異的な官能基と反応する試薬と反応させ、色の変化で対象とする官能基を有する化合物の存在の有無を判断する方法である。詳細な反応機構が不明な反応が多いが、官能基に対して特異性は高く、共通の官能基を有する化合物のスクリーニングには有効である。しかし、抗原抗体反応のような化合物（構造）の特異性は低く、検出感度も劣る。その為、多く（高濃度）の検査試料が必要となる。覚せい剤の摂取の際に使用した器具や摂取した残りの粉末の検査には簡便で有用である。

生体試料、特に尿中の覚せい剤を検査する場合、通常はメタンフェタミンを摂取したものの尿には未変化体が多く排泄されるために、尿中のメタンフェタミンを簡便に検出できる方法がスクリーニングとしては望ましい。これまでに、シモン反応やマルキス反応を利用した検出法（TBPE 法、吸着チップ法、SR チップ法、試験紙法など）が利用されてきたが、簡便で選択性の高い検査キットが容易に入手できるようになったため、尿などの生体試料の検査には、次に示す簡易イムノアッセイキットがスクリーニング法として推奨される。

3-1-1. シモン反応

脂肪族の第2級アミンの定性反応に利用されていた方法であり、必ずしも覚せい剤類に特異的な反応ではない。その発色機構の詳細については、今のところ不明のようである。

【試薬の調製】

- 1) 20%炭酸ナトリウム溶液：炭酸ナトリウム 20g を水に溶かして 100ml とする。
- 2) 1%ニトロプルシッドナトリウム溶液：ニトロプルシッドナトリウム 0.1g を水に 10ml とする。
- 3) 50%アセトアルデヒド・エタノール溶液：アセトアルデヒド 10ml とエタノール 10ml とをよく混和する。

【方法】

- 1) 試料を白色滴板上にとる。
- 2) 20%炭酸ナトリウム溶液、1%ニトロプルシッドナトリウム溶液、50%アセトアルデヒド・エタノール溶液を各1滴ずつ滴下する。
- 3) 色の変化を観察する。

【コメント】

- 1) メタンフェタミンが存在すると青～青藍色を呈する。しかし、アンフェタミンは一級アミンであるために本反応では着色しないので注意する。
- 2) メタンフェタミンの検出下限は、10 μ gである。
- 3) 1%ニトロプルシッドナトリウム溶液は、淡赤色～淡ピンク色であるが、青みがかってきた場合には、調製し直す。
- 4) これらの試薬が一つのキットになった X-checker が市販されている。

*尿試料を検査する場合

【方法】

- 1) 尿に炭酸ナトリウムを加えて pH を 9～10 とする。
- 2) クロロホルム-イソプロパノール混液 2ml で3回抽出する。
- 3) 抽出したクロロホルム-イソプロパノール混液を合し、無水硫酸ナトリウムを加えて脱水、濾過する。
- 4) 濾液に酢酸を1滴加えて、クロロホルム-イソプロパノールを留去する。
- 5) 得られた残渣を検査試料とする。

【コメント】

- 1) 尿中の不純物が多くて反応がうまく進まない場合には、【方法】2) で得られた有機層中の覚せい剤を酸性水溶液中に移行させ、再度アルカリ性にしてクロロホルム-イソプロパノール混液で抽出すると良い場合がある。
- 2) 必ず陽性と陰性の対象を同時に検査する。

3-1-2. マルキス反応

本方法は、窒素原子を含むアルカロイドの定性反応で、覚せい剤に限らずモルヒネなど、種々の窒素原子を含む医薬品と反応して呈色反応を起こす。

【試薬の調製】

- 1) マルキス試液：ホルマリン 1ml に硫酸 9ml を加える。用時調製。

【方法】

- 1) 試料を試験管に取り、マルキス試液を加える。
- 2) 静かに混和して色調の変化を観察する。

【コメント】

- 1) 呈色する薬毒物：
アンフェタミン：オレンジ色→褐色
メタンフェタミン：オレンジ→緑色→青色
アンチピリン：緑黄色
ペナドリール：緑黄色
モルヒネ：紫色
- 2) 薬物によって呈色具合が異なるが、多くの薬物によって呈色するので、必ず他の検査方法によって確認を取る必要がある。
- 3) 必要に応じて、有機溶剤を用いて抽出を行う。

3-2. イムノアッセイ (Immunoassay)

イムノアッセイ法としては、EMIT、TDx、Coat-A-Count、Abuscreen など様々な方法がある。これらの方法には、専用の機器を必要とするものもあり、既に専用の機器を装備している機関においてはスクリーニング法として有用である。また、新たに高額な装置を購入しなくても簡便性、操作性などの点でカードタイプ（デバイス）のキットが、覚せい剤のスクリーニング法としては有用である。

3-2-1. トライエージ (Triage®)

トライエージは免疫化学的方法（ASCEND マルチイムノアッセイ，AMIA）を利用した乱用薬物検査キットである。AMIA 法は、化学的に標識した薬物（薬物抱合体）と尿中に存在する薬物が抗体結合部を奪い合う、競合的結合免疫学的測定法である。検査する尿と試薬とを短時間インキュベーションした後、反応混合物を検査領域の膜に移す。尿中の薬物によって抗体結合部位からはずされた遊離薬物抱合体は、膜上に固定されているモノクローナル抗体のゾーンに結合する。膜を洗浄して、結合していない抱合体を除き、背景をはっきりさせると試験結果は視覚的に読みとることができる。

陽性検体は、薬物名に近接する薬物検出ゾーンに、はっきりと着色した帯を生じ、陰性検体は、着色した帯を生じない。

【方法】

- 1) 尿 140 μ l を反応カップに入れ、10 分間室温で放置する。
- 2) 反応液を薬物検出領域へ移す。
- 3) 反応液が完全に染み込んだ後、薬物検出領域へ付属の洗浄液を 3 滴滴下して染み込ませる。
- 4) 薬物検出ゾーンでの赤紫色のバンドの有無を読みとり、覚せい剤の有無を判定する。

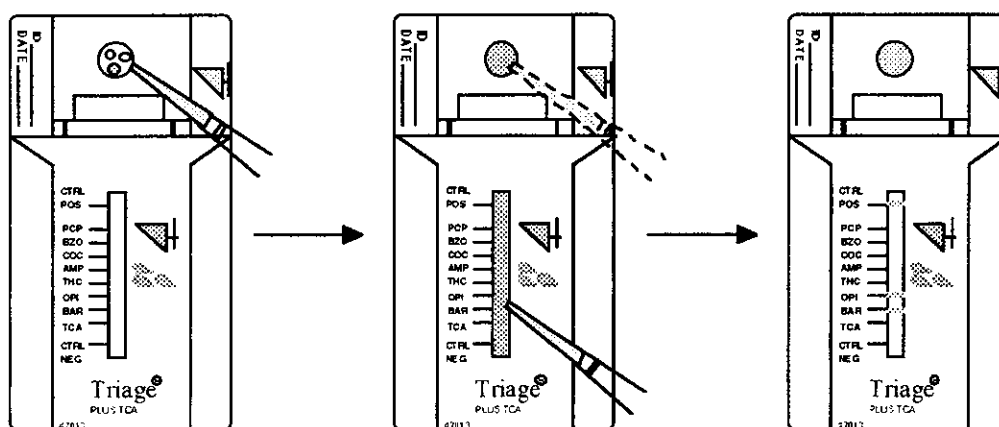


図3 トライエージの操作法

【コメント】

- 1) 反応カップに3種の錠剤(緩衝剤、金コロイド試薬、モノクローナル抗体)の入っていることを確認する。一つでも欠けていると正確な検査ができない。
- 2) 判定の際、まず CTRL POS (コントロール陽性) には赤紫色のバンドが現れ、CTRL NEG (コントロール陰性) には赤紫色のバンドが現れないことを確認しておく。CTRL NEG に赤紫色のバンドが現れたときは、別のデバイスで再検査する。バンドの読みとりが、ピジューラインIIと反対なので注意を要する。
- 3) カットオフ値は、アンフェタミン、メタンフェタミンともに $1.0 \mu\text{g/ml}$ である。
- 4) フェネチルアミンが含有されていると陽性を示すことがあるので、腐敗した試料を検査する場合は注意を要する。
- 5) 同様の簡易キットに、ピジューラインもあり、必要に応じて使い分けると便利である。
- 6) 血液の場合は、血液 1g に対してスルホサリチル酸 50mg を加えて、攪拌、遠心 (3,500rpm, 3min) して得られる上清に硫酸アンモニウム 25mg を加えた試料を尿と同様に検査することが可能である。(F.Moriya, Y.Hashimoto, Jpn.J.Legal Med., 50, 50-56, 1996)

- 7) 麻黄を含む漢方薬や感冒薬を服用することによって陽性反応が現れることが指摘されていたが、製品の改良によって麻黄由来の成分による疑陽性反応は改善された。
- 8) 本検査は、あくまでもスクリーニングなので、確認（同定）には GC/MS など分析する必要がある。

3-2-2. ビジュアラインII®

ビジュアラインは、イムノクロマトグラフィー法の原理により、尿中の薬物およびその代謝物を迅速・簡便に検出するもので、尿中の薬物のスクリーニングに用いられる。ビスアラインで検出できる薬物は、メタンフェタミン、モルヒネ、マリファナ、コカイン、ベンゾジアゼピンである。ビジュアラインは、トライエージとは異なり、一枚のキットにつき、一つの薬物の検査しかできない。また、現時点で入手可能なものは、メタンフェタミン、マリファナ、ベンゾジアゼピン用のみである。

【方法】

- 1) キットに付属しているスポイドで尿を吸い取る。
- 2) デバイスの検査ゾーン（circular sample well）に3滴の尿を滴下する。
- 3) 滴下後5分間の間に検査ゾーンに現れるバンドの有無を読みとり、覚せい剤の有無を判定する。

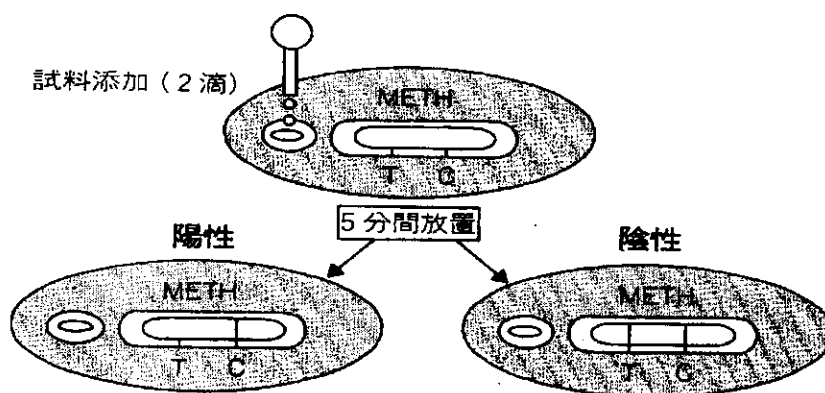


図4 ビジュアラインの操作法

【コメント】

- 1) 試料分注用のスポイトは、垂直に保ち、気泡を含まないように尿試料を採取し、サンプルウエルに滴下する。試料量が、過剰または不十分な場合には、正しい結果の得られないことがある。
- 2) 尿試料が、サンプルウエル周辺の吸収パッドにオーバーフローすることがないように、1滴/秒程度の一定の速さで滴下する。

- 3) 判定は5～10分で行い、コントロールおよび薬物検出ラインのバンドの消失の有無を読みとる。メタンフェタミンが含有されている場合、薬物検出ラインのバンドが消失する。尿試料を滴下した後の反応時間が10分以上になった場合には、ラインの着色の強さが変化したり、適正な反応時間帯には存在しなかった新しい着色ゾーンが現れたりすることがある。従って、反応時間（尿試料を滴下してからの時間）5～10分間に結果を観察し、記録することが重要である。
- 4) メタンフェタミンのカットオフ値は、 $1.0\mu\text{g/ml}$ である。
- 5) 非常にぼんやりとしたラインTの現れることがある。どのようなラインであれ、ラインTが現れた場合は、陰性である。
- 6) ラインの発色の強度と尿試料中の薬物濃度とは、相関性は無い。
- 7) 同様の簡易キットに、Triage[®]、BIONIKE[®]、AcuSign[®]、Accutest[®]もあり、必要に応じて使い分けると便利である。
- 8) 粉末の場合は、水などに溶解後、液体の場合は、水で希釈後テストすることも可能である。

4. 薄層クロマトグラフィー (Thin-layer Chromatography, TLC)

薄層クロマトグラフィーは、ガラス板やアルミシートのような平板に担体をコーティングした薄層板上に試料をスポットし、溶媒で展開させることにより、それぞれの成分に分離する方法である。使用する薄層板と展開溶媒の種類によって化合物の移動度は異なり、その移動度は Rf 値 (=原点からスポット中心までの距離/原点から溶媒先端までの距離) で表され、この Rf 値と化合物に特異的な呈色反応の色の比較によって同定する。

本法は、特殊な機械を使用せずに簡便な操作で多数の検査試料の測定が可能である。担体成分としては、シリカゲルが使用されていたが、近年は化学修飾型のシリカゲルをコーティングした製品も市販されており、HPLC (高速液体クロマトグラフィー) と同様な分離が可能である。また、担体の粒子系が小さく、均一な高性能薄層クロマトグラフィー (HPTLC) も利用できるようになっている。

【試薬の調製】

- 1) 2N NaOH : 水酸化ナトリウム 8g を水に溶かして 100ml とする。
- 2) 10N NaOH : 水酸化ナトリウム 40g を水に溶かして 100ml とする。
- 3) 1N HCl : 塩酸 9ml に水を加えて 100ml とする。
- 4) ジエチルエーテル、酢酸エチル、メタノール : 市販の特級試薬を用いる。
- 5) シモン試薬 : 20%炭酸ナトリウム溶液
- 6) ドラーゲンドルフ試薬 : 次硝酸ピスマス 0.85g を氷酢酸 10ml 及び水 40ml を加え、激しく振り混ぜて溶かし A 液とする。ヨウ化カリウム 8g を水 20ml に溶かし、B 液とする。使用直前に A 液及び B 液の等用量混液 4ml に薄めた酢酸 20ml を加える。
- 7) ヨウ化白金酸カリウム試薬 : 10%塩化白金酸溶液 1ml に 4%ヨウ化カリウム溶液 25ml および水 24ml を加えて 50ml とする。

【分析条件】

プレート : Kieselgel 60F₂₅₄ (MERCK)

展開溶媒 : メチルエチルケトン/ジメチルホルムアミド/28%アンモニア水 (13 : 1.9 : 0.1, v/v/v)

呈色試薬 : ドラーゲンドルフ試薬、ヨウ化白金酸カリウム試薬、シモン試薬など。

【方法】

- 1) 尿 2ml に 2N NaOH 0.5ml とジエチルエーテル 10ml を加えて振盪する。
- 2) エーテル層 8ml をとり、1N HCl 2ml を加えて振盪する。
- 3) 水層 1.6ml をとり、10N NaOH 0.4ml と酢酸エチル 1ml を加えて振盪する。
- 4) 酢酸エチル層 0.6ml をとり、窒素気流下で酢酸エチルを留去する。

- 5) 残渣をメタノール 50 μ l に溶解し、試料溶液とする。
- 6) 試料溶液を TLC プレートの下から 1cm のところにスポットする。
- 7) 展開溶媒を入れた展開槽の中に、試料溶液をスポットした TLC プレートを入れる。
- 8) 展開溶媒がプレートの先端から 1cm 程度手前まで展開したら、TLC プレートを展開槽から取り出す。
- 9) ドラフト内などで展開溶媒を風乾し、UV ランプの下で観察する。
- 10) 発色試薬を噴霧して、色の変化を観察する。

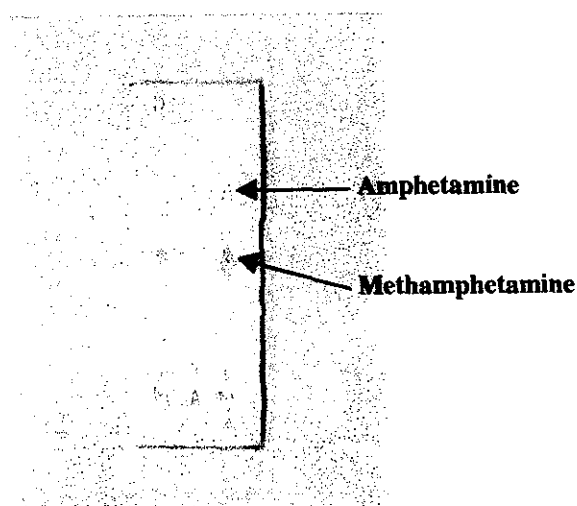


図5 覚せい剤を分析した TLC プレート（発色：ドラージェンドルフ試薬）

【コメント】

- 1) クリーンアップの必要のない場合は、【方法】 1) で得られるエーテル層を濃縮し、残渣を検査試料として使用することもできる。
- 2) 血液の場合は、血液 1g を 0.1N HCl で2倍に希釈したものを試料とする。
- 3) 酢酸エチルを留去する際、加温したり、長時間窒素気流下においておくと覚せい剤も気散する恐れがあるので注意する。
- 4) Rf 値は、それぞれ 0.44（アンフェタミン）、0.15（メタンフェタミン）である。この値は、あくまでも参考値であるので、標準品を同一のプレートにスポットして展開し、その呈色および Rf 値を比較して同定する。
- 5) 塩基性シリカゲルやアルミナを担体としたものも市販されているが、通常のシリカゲルを用いるのが無難である。
- 6) シモン試薬では、メタンフェタミンは、青藍色に呈色するが、アンフェタミンは呈色しないので注意する。

5. ガスクロマトグラフィー (Gas Chromatography, GC)

ガスクロマトグラフィー (GC) とは、気体を移動相として用いたクロマトグラフィーの総称である。無機ガス、低級炭化水素から多くの医薬品の分析に応用範囲が広げられ、多成分混合物の同時分析や微量成分の定量分析で威力を発揮する。文字どおりガス状になる化合物が分析の対象となるので、気化しない化合物の分析は困難である。また、試料を気化させるために気化室内が高温となっているので、熱に不安定な化合物は分析できない。このような化合物を分析したい場合は、シリル化剤やアシル化剤などで誘導体化し、揮発性および熱安定性の化合物に化学修飾した後に分析する必要がある。検出には多くの検出器が選択できるが、汎用されている検出器としては、水素イオン化検出器(FID)、熱伝導度検出器(TCD)、窒素・リン検出器(NPD)、電子捕獲型検出器(ECD)などである。近年は、質量分析計を検出器として接続したGC-MS(質量分析計)が普及し、薬毒物の同定機器としては欠かせないものとなっている。

覚せい剤は、弱いながらも揮発性であることから遊離塩基のままGCで分析することも可能である。しかし、注入口や分析カラムへの吸着によって分離や検出感度が悪くなったりすることから、誘導体化する方法が汎用されてきた。誘導体化の方法は、アシル化、アルキル化、シリル化など種々の方法が報告されているが、誘導体の分離や試薬の安価さなどの理由から、無水トリフルオロ酢酸(TFAA)によるTFA誘導体化が汎用されている。

5-1. 液液抽出法

生体試料中の薬毒物を分析するには、1) タンパクや脂質などの多量に存在する生体成分を除去する、2) クロマト分離に悪影響を及ぼす成分を除去する、3) 薬毒物を濃縮する分析機器に悪影響(分析カラムが詰まったり、)を及ぼす成分を除去するなどの目的で薬毒物を分離・精製することが必要となる。その際に有機溶剤に溶けやすいか否か(分配係数の差)を利用して検査試料中のタンパク質や脂質成分から薬毒物を分離・抽出する方法が液液抽出法である。本方法には、種々の変法が報告されており、一概には最適な方法を列挙することは困難である。

覚せい剤は、塩基性にすることによって有機溶剤で抽出することができる。しかし、全血などのタンパク質や脂質成分の多い試料を本方法によって抽出する場合、生体成分が乳化してエマルジョンを形成して有機層と水層とが分離できなくなる欠点があり、多少のノウハウを必要とすることがある。

【試薬の調製】

- 1) 2N NaOH: 水酸化ナトリウム 8g を水に溶かして 100ml とする。
- 2) 10N NaOH: 水酸化ナトリウム 40g を水に溶かして 100ml とする。
- 3) 1N HCl: 塩酸 9ml に水を加えて 100ml とする。

4) ジエチルエーテル、酢酸エチル、メタノール：市販の特級試薬を用いる。

【分析条件】

ガスクロマトグラフ/質量分析計：GC 5890 II/MDS 5971A (Hewlett Packard)

分析カラム：HP-5MS (30m, 0.25mm ID, 0.25 μ m film thickness)

オープン温度：100 $^{\circ}$ C \sim 300 $^{\circ}$ C(10 $^{\circ}$ C/min) \sim 300 $^{\circ}$ C(3min)

注入口温度：250 $^{\circ}$ C

検出器温度：280 $^{\circ}$ C

キャリアーガス：ヘリウム (40kPa)

イオン化法：EI (70eV)

検出質量範囲：m/z 50 \sim 550

【方法】

- 1) 尿 2ml に内部標準物質 (3-フェニルプロピルアミン) 0.5 μ g、2N NaOH、0.5ml とジエチルエーテル 10ml を加えて振盪する。
- 2) エーテル層 8ml をとり、1N HCl 2ml を加えて振盪する。
- 3) 水層 1.6ml をとり、10N NaOH 0.4ml と酢酸エチル 1ml を加えて振盪する。
- 4) 酢酸エチル層 0.6ml をとり、窒素気流下で 0.1ml まで濃縮する。
- 5) 濃縮液に無水トリフルオロ酢酸 0.1 ml を加え、50 $^{\circ}$ Cで 10 分間反応させる。
- 6) 反応終了後、溶媒を濃縮乾固し、残渣を酢酸エチル 40 μ l に溶解し分析試料とする。

【コメント】

- 1) 血液の場合は、血液 1g を 0.1N HCl で 2 倍に希釈したものを試料とする。
- 2) 爪や毛髪の場合は、試料片をジエチルエーテルで洗浄後細かく切って、2.5N NaOH 2ml に浸し、70 \sim 80 $^{\circ}$ Cで 30 分間加熱し、硬組織を溶解させる。これを酢酸エチル 2ml で 2 回抽出し、酢酸エチル層に酢酸 0.1ml を加えた後、溶媒を窒素気流下で留去する。残渣に無水トリフルオロ酢酸 50 μ l とピリジン 20 μ l を加え、10 \sim 20 分間室温で放置した後、溶媒を留去し、再度酢酸エチルに溶解して分析試料とする。
- 3) 抽出溶媒については、種々の溶媒が検討されており、クロロホルム-イソプロパノール (3:1,v/v) などでも問題ないが、溶媒の留去などの操作性を考慮するとジエチルエーテルを推奨する。
- 4) アンフェタミン-TFA 誘導体、メタンフェタミン-TFA 誘導体および 3-フェニルプロピルアミン-TFA 誘導体は、それぞれ 6.53 分、7.95 分、8.10 分に認められる。
- 5) アンフェタミン-TFA 誘導体、メタンフェタミン-TFA 誘導体および 3-フェニルプロピルアミン-

TFA 誘導体のベースイオンピークは、それぞれ m/z 140、 m/z 154、 m/z 118 である。

- 6) アンフェタミンおよびメタンフェタミンの定量範囲は、2~4,000ng/ml および 4~4,000ng である。
- 7) 定量は、水 2ml にメタンフェタミン 0.2 μ g およびアンフェタミン 0.05 μ g を添加し、抽出、TFA 化したのち分析し、それぞれのピーク面積比を基準として測定する。

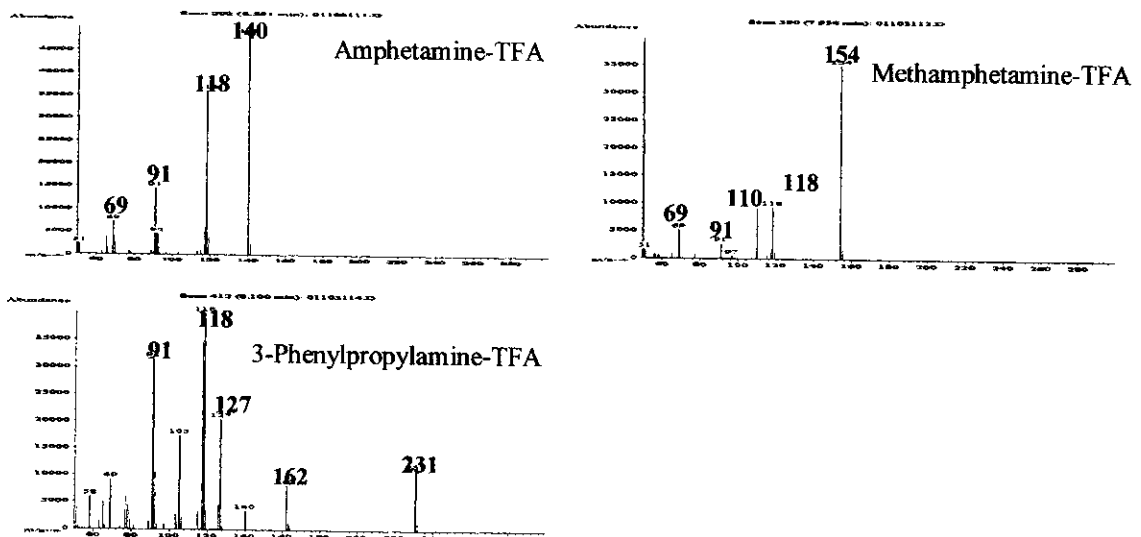
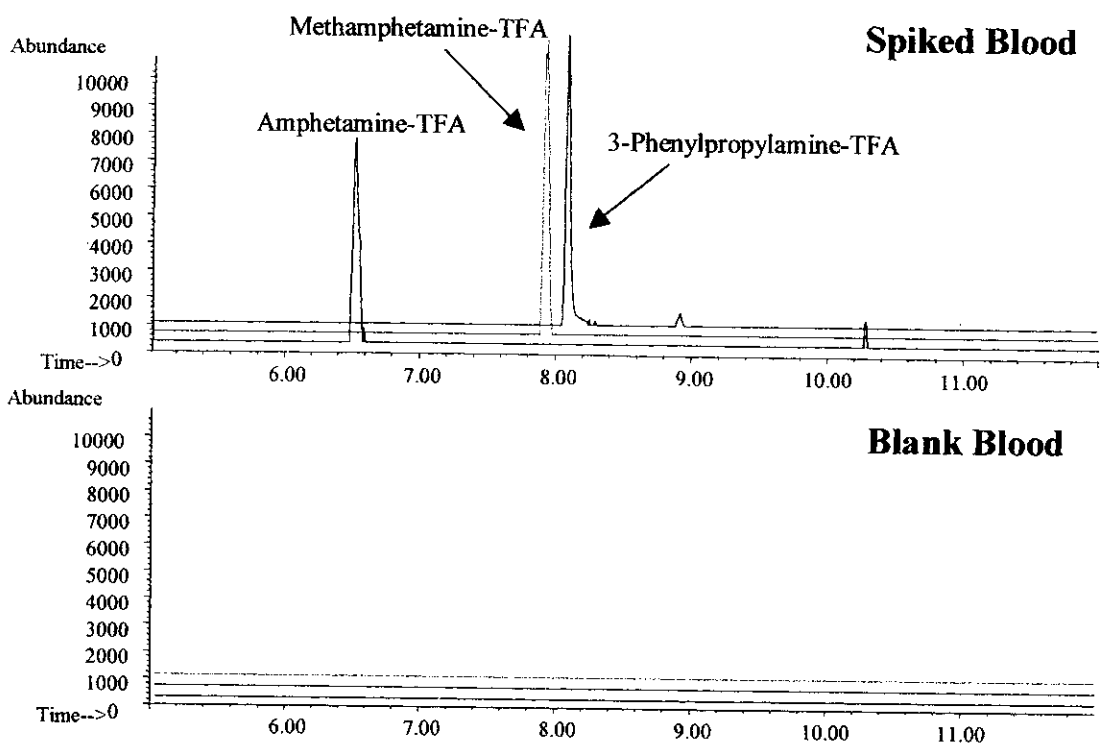


図6 覚せい剤のTFA誘導体のガスクロマトグラムとマススペクトル

5-2. Extrelut 抽出法

Extrelut®は巨大細孔を有する珪藻土で、水系試料を Extrelut®カラム内に注ぎ込むと試料は化学的に不活性な Extrelut®の表面上に均一に分散し、水分をその表面に吸着・保持することができる。薬物を溶出する際には、水と混和しない有機溶剤を流すことによって珪藻土の表面で液液抽出が行われ、薬物が溶出してくる。珪藻土自体が固体であるので固相抽出と思われがちであるが、分配のモードは液液抽出である。

【試薬の調製】

- 1) 内部標準物質：メタンフェタミン-d5 (0.1mg/ml)
- 2) ホウ酸緩衝液 (50mM, pH 10.5)：ホウ酸ナトリウム ($\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$, MW, 381.42) 1.91g を水 100ml に溶解する。そのホウ酸ナトリウム溶液 60ml と 0.1N 水酸化ナトリウム溶液 40ml とを混和し、pH を 10.5 に調整する。
- 3) 酢酸エチル (1%塩化ギ酸プロピル含有)：塩化ギ酸プロピル 100 μl を酢酸エチルに溶解して 10ml とする。

【分析条件】

ガスクロマトグラフ/質量分析計：GC 5890 II/MDS 5971A (Hewlett Packard)

分析カラム：HP-5MS (30m, 0.25mm ID, 0.25 μm film thickness)

オープン温度：100 $^{\circ}\text{C}$ (1min)~300 $^{\circ}\text{C}$ (10 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$)~300 $^{\circ}\text{C}$ (3min)

注入口温度：250 $^{\circ}\text{C}$

検出器温度：280 $^{\circ}\text{C}$

キャリアーガス：ヘリウム (40kPa)

イオン化法：EI (70eV)

選択イオン：m/z 91, 118, 130, 156 (アンフェタミン)

m/z 58, 91, 102, 144, 176 (メタンフェタミン)

m/z 62, 92, 106, 148 (メタンフェタミン-d5)

【方法】

- 1) 試験管に血液 0.5g をとる。
- 2) 内部標準物質 5 μl とホウ酸緩衝液 (50mM, pH 10.5) 1.0ml とを加えて良く攪拌する。
- 3) 混合液を Extrelut®カラムに注ぎ込み、室温で 15 分間放置する。
- 4) 誘導体化剤を添加した酢酸エチル (1%塩化ギ酸プロピル含有) 1ml をカラムに注ぎ、さらに室温で 10 分間反応 (放置) させる。
- 5) 酢酸エチルで薬物を溶出させ、溶出してきた酢酸エチル 4ml を新しい試験管に取る。

- 6) 酢酸エチルを窒素気流下で留去する。
- 7) 残渣を酢酸エチル 200 μ l に溶解し分析試料とする。

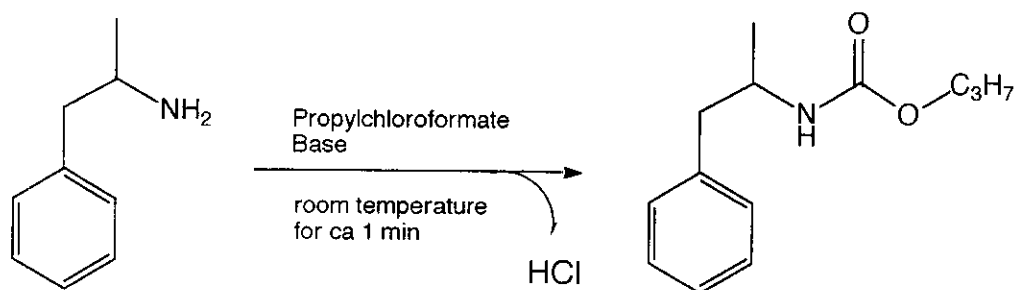


図7 アンフェタミンと塩化ギ酸プロピルの反応式

【コメント】

- 1) 検査試料としては、血液以外にも血清や尿、胃洗浄液など液状の試料が使用可能である。
- 2) Extrelut® NT (詰替用) は3倍容量のジエチルエーテルで洗浄する。エーテル臭が無くなるまでドラフト内で風乾する。さらに40℃で1時間乾燥する。乾燥後、2gをガラス管(150mm×10mm i.d.)に充填してExtrelutカラムとして使用する。
- 3) 本操作で使用する誘導体化剤は有害であるため、ドラフト内で調製する。
- 4) 本方法でのアンフェタミン及びメタンフェタミンの定量範囲は、12.5~2,000ng/g であり、検出下限は、12.5ng/g である。
- 5) TFA 誘導体などは、溶媒留去時に気散して回収率低下が報告されているが、本誘導体では気散による回収率の低下はない。

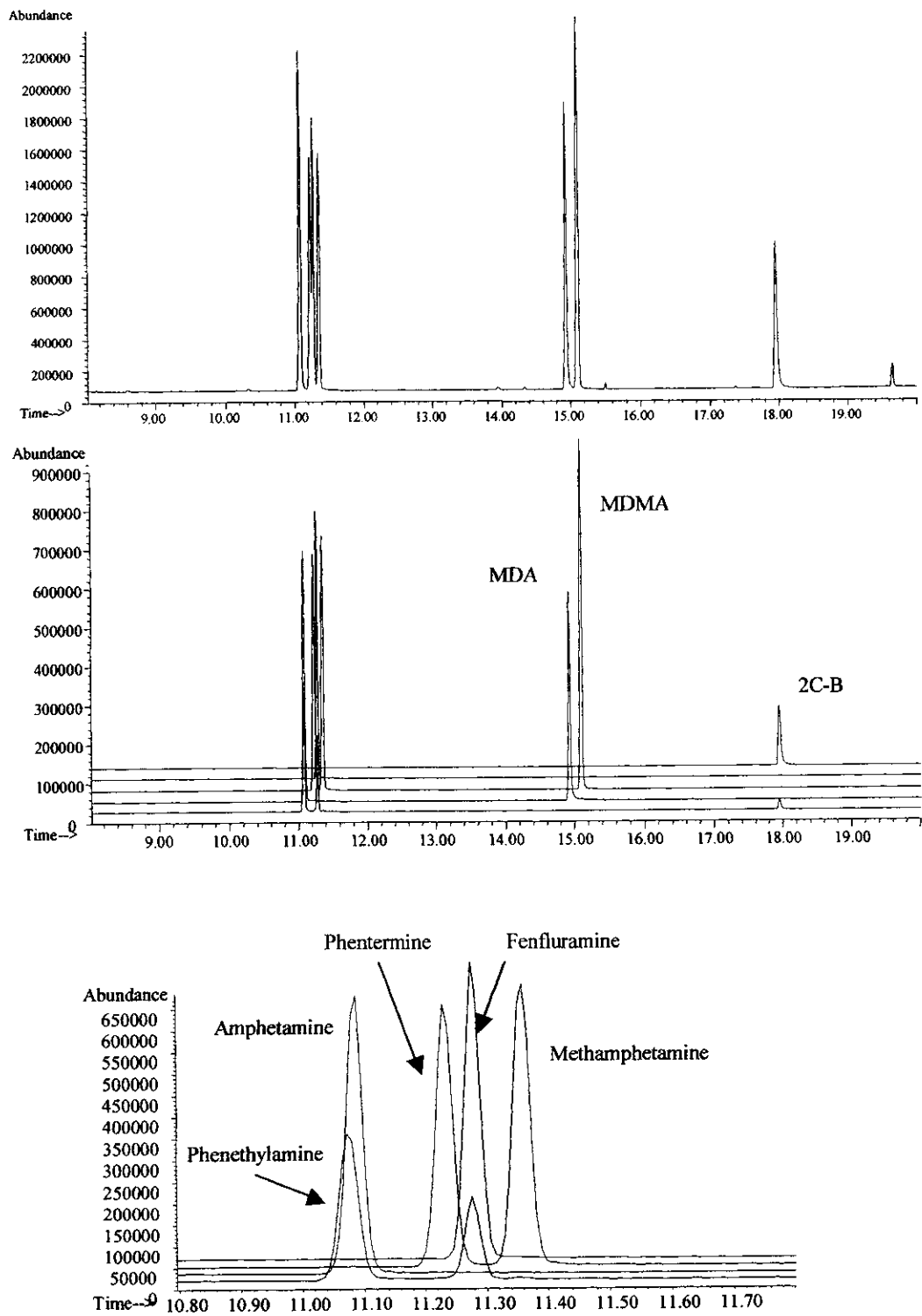


図8 覚せい剤および関連化合物のギ酸プロピル誘導体のガスクロマトグラム

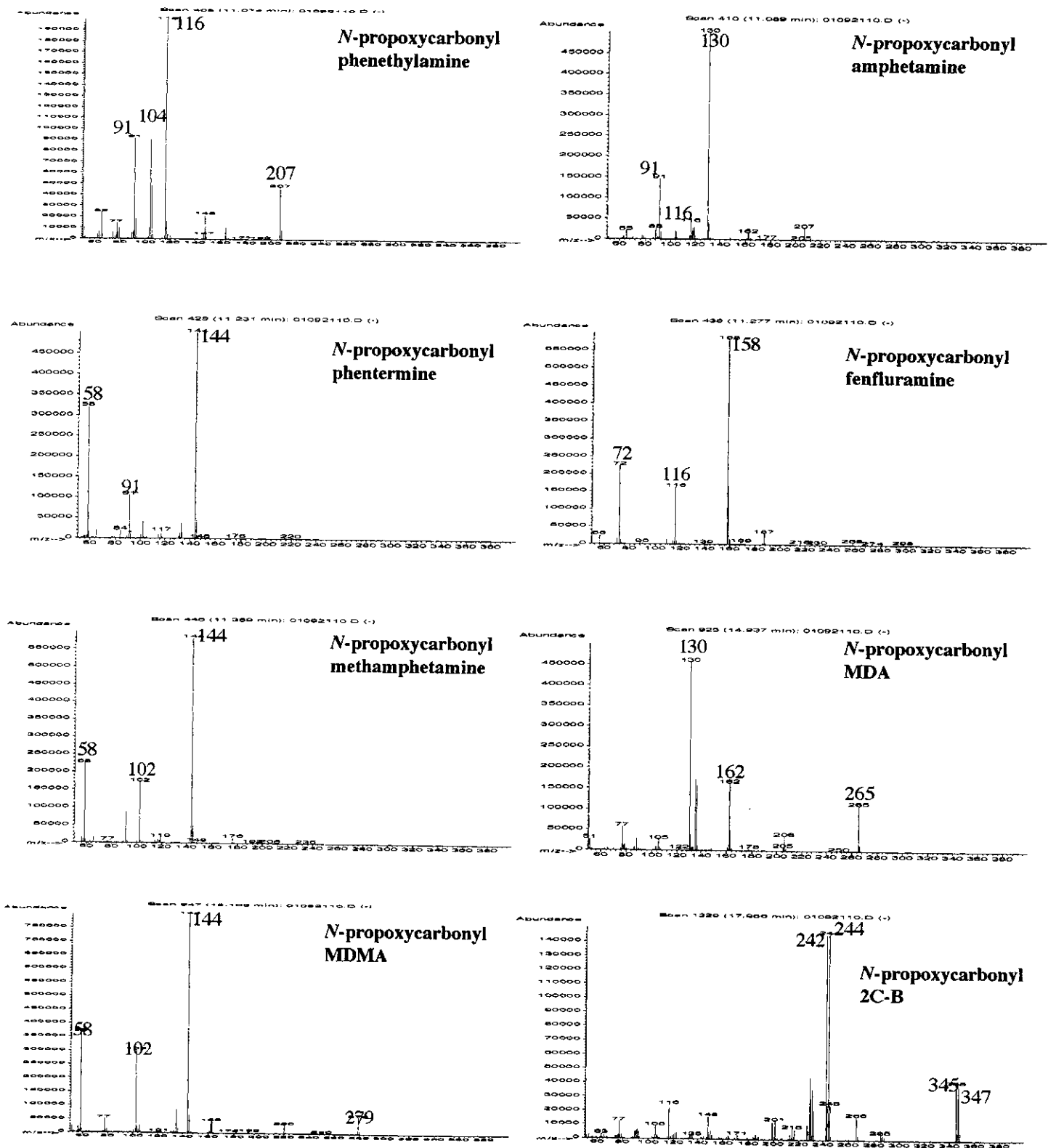


図9 覚せい剤および関連化合物のギ酸プロピル誘導体のマスペクトル

実習で得られたクロマトグラムを添付する

図10 覚せい剤を摂取した患者より得られた血液を分析した例

5-3. 固相マイクロ抽出法

固相マイクロ抽出 (Solid Phase Microextraction : SPME)法 は、カナダ、ウォータールー大学の J.Pawliszyn らのグループによって開発された新しいクロマトグラフィー用の試料抽出、濃縮、導入法であり、従来用いられてきた試料調製法に比べ、有機溶媒を使用せず、短時間で簡便に試料調製ができるという特長を持っている。現在までに、多くの研究者が幅広い分野での応用等について報告をしており、SPME 法はクロマトグラフィーにおける試料前処理法の重要な手法の一つとして定着したようである。

SPME での目的成分の抽出は、試料溶液と SPME ファイバー上の液相あるいは吸着剤との分配係数に則って行われる。したがって、分配係数の大きい成分ほどファイバー液相に抽出されることになる。

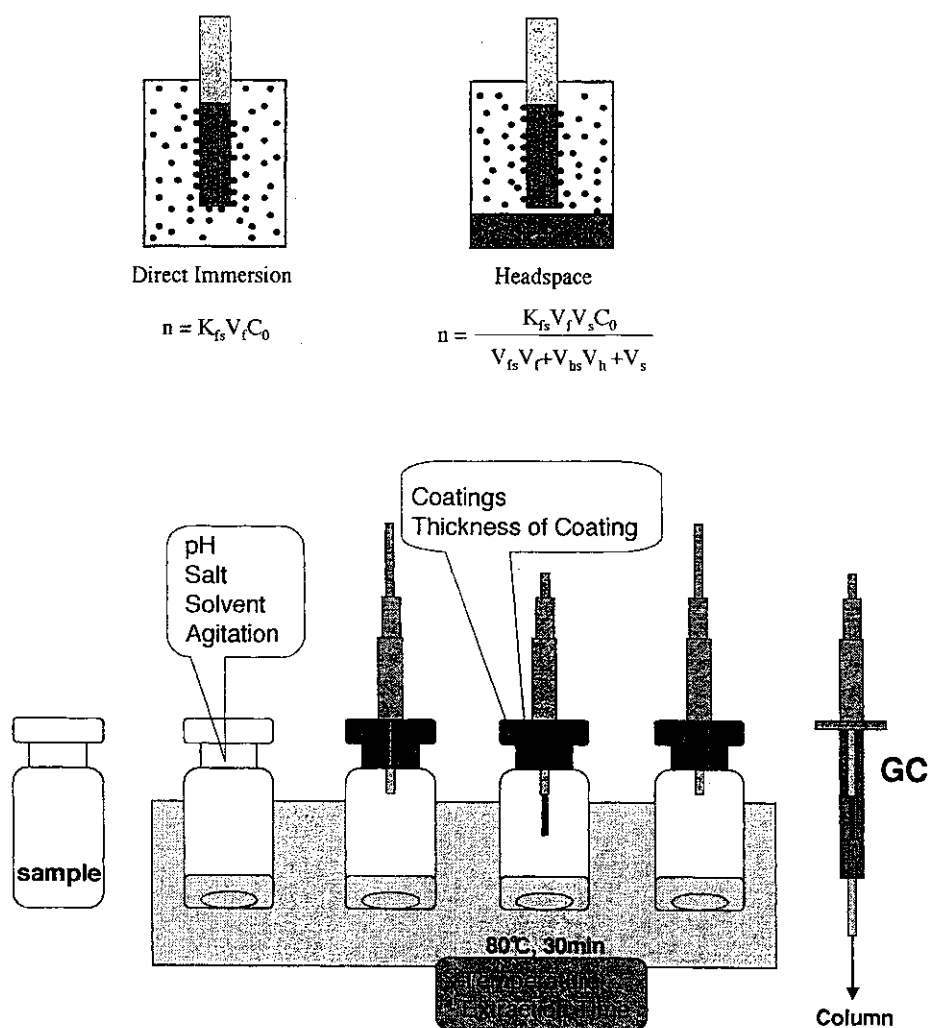


図 1 1 SPME 法でのファイバーへの化合物の移動様式および抽出操作

5-3-1. On Column Derivatization

覚せい剤を分析する際の問題点として、注入口や分析カラムへの吸着によって分離や検出感度が悪くなったりすることがあげられる。これらを改善する目的で、誘導体化する手法が取られている。しかし誘導体化試薬の選択によっては、誘導体化中の気散による回収率の減少や誘導体の安定性に問題が残されている。

本方法は、一旦ファイバー上に抽出した覚せい剤を全量 GC に注入し、かつ GC の注入口内で誘導体化する方法である。注入口内で誘導体化するには、SPME ファイバー上に吸着した覚せい剤が注入口内で脱離が完了するまで誘導体化剤が注入口内に留まっておく必要がある。その条件を満たす誘導体化剤としては、無水ヘプタフルオロ酪酸 (Heptafluorobutyric anhydride, HFBA) が適していた。

【試薬の調製】

- 1) 内部標準物質：メタンフェタミン-d₅(0.01mg/ml, 0.01N HCl)
- 2) 1N 水酸化ナトリウム：水酸化ナトリウム 4g を水に溶かして 100ml とする。
- 3) HFBA：無水ヘプタフルオロ酪酸 (Heptafluorobutyric anhydride, HFBA) 50 μ l に酢酸エチル 950 μ l を加える。

【分析条件】

ガスクロマトグラフ/質量分析計：GC 17A/MS QP-5000 (Shimadzu)

分析カラム：HP-5MS (30m, 0.25mm ID, 0.25 μ m film thickness)

オープン温度：45 $^{\circ}$ C (3.5min)~270 $^{\circ}$ C (25 $^{\circ}$ C/min)~270 $^{\circ}$ C (5min)

注入口温度：250 $^{\circ}$ C

インターフェース温度：230 $^{\circ}$ C

キャリアーガス：ヘリウム (100kPa)

イオン化法：EI (70eV)

選択イオン：m/z 91, 118, 165, 240 (アンフェタミン)

m/z 91, 118, 210, 254 (メタンフェタミン)

m/z 92, 91, 102, 144, 258 (メタンフェタミン-d₅)

【方法】

- 1) 検査試料 0.5ml(g)を 12ml 容量のバイアルビンに入れる。
- 2) 内部標準物質 5 μ l、水酸化ナトリウム 0.5ml を加える。
- 3) シリコン製のセプトラムで蓋をする。
- 4) 80 $^{\circ}$ Cで 20 分間、加温する。